

Tecnica e modificações da reação de Wassermann

pelo

DR. ARTHUR MOSES
Assistente

Technik und Methoden der Wassermann'schen Reaktion

von

Dr. ARTHUR MOSES
Assistent

Não visa este trabalho exclusivamente contribuir com os resultados de exames praticados no correr de quatro anos, desde que sobre o assunto publicámos a dissertação inaugural. Ocioso seria voltar a discutir com dados de estatística o valor pratico da reação, porque embora diverjam largamente os pesquisadores em questões de tecnica e sobre seu mecanismo para o qual não encontram explicação satisfatoria, predominando a opinião que a explica como combinação especial de lipoides, congregam se na maioria para afirmar a vantagem pratica da mesma.

Apezar da entrada definitiva para as diversas especialidades clinicas onde constitue auxiliar valioso, fornecedor de uteis indicações em grande serie de casos, quando outro caminho não haveria para conseguir es-

Diese Arbeit soll sich nicht darauf beschränken, einen Bericht über die im Laufe von 4 Jahren — seit Publikation meiner Inauguraldissertation — gemachten Untersuchungen mitzuteilen. Es wäre ja wohl überflüssig an der Hand statistischer Angaben den praktischen Wert dieser Reaktion nochmals zu besprechen; sind doch die meisten Autoren darin einig, dass sie den grossen praktischen Nutzen anerkennen. Allerdings gehen ihre Ansichten über die Technik und das Wesen dieser Reaktion weit auseinander; im allgemeinen überwiegt die Anschauung, welche sie durch eine besondere Verbindung der Lipoide erklärt.

Troizdem diese Reaktion in den verschiedenen klinischen Spezialitäten endgültig Eingang gefunden hat, indem sie in einer ganzen Anzahl von Fällen wertvolle Inhalts-

clarecimento é entretanto erroneo considerá-lo milagrosoolvedor de todos os problemas.

Não insistiremos em fastidiosas questões de técnica. Lembremos apenas alguns cuidados que não podem ser abandonados desde que se queira evitar a incidência nas mais flagrantes causas de erros.

É indispensável em cada reação empregar diversos antígenos, nunca em número menor de três. Ha quem tenha recomendado para dosagem a mistura de extratos que denominam antígeno principal. É prática pouco recomendável, porque é fato bem comum a adição de extratos exercer ação impediante em quantidade menor que a de cada um dos que entram na mistura.

Deve-se usar extratos de preparo diverso, um poderá ser de coração humano, outro de coração de boi, o terceiro de coração de boi reforçado por uma solução de colesteroína. SACHS lembra adicionar a 1 gr. de coração de boi ou de cobaia 5 cc. de álcool e conservar a -10° durante dois dias. Decanta-se e filtra-se para adicionar uma solução de colesteroína a 1:1000 ou 1:2000. O extrato ás vezes precisa ser diluído e só então se adiciona colesteroína na proporção de 0,8 o/o.

Cada extrato deve ser ensaiado com diversos soros sífilíticos e muitos normais e principalmente com estalões bem conhecidos porque só assim se pode ajuizar do valor do produto para a reação de Wassermann. Só nas mãos de pesquisadores experimentados tem valor este ensaio que forma a base de qualquer trabalho.

Não é recomendável ensaiar o extrato com um só soro de sífilítico em período secundário em que o resultado é francamente positivo com um extrato estalão e sim com outros em que a reação anteriormente realizada tenha acuzado fracamente positivo. A falta deste cuidado dá lugar ao emprego de extrato de valor oscilante de modo a poder acuzar resultado negativo com soro pobre em produtos específicos, assim como, fornecendo hoje resultado positivo, poderá ama-

punkte bietet, wo ein Aufschluss auf keinem anderen Wege erreichbar ist, so wäre es dennoch irrig, sie als ein über alle Probleme Aufklärung gebendes, sozusagen wunderbares Mittel ansprechen zu wollen.

Ich vermeide es auf ermüdende Einzelheiten bei der Technik einzugehen; es sollen hier vielmehr nur einzelne Punkte erwähnt werden, die man nicht vernachlässigen darf, ohne in grobe Irrtümer zu verfallen.

Zuerst ist es für jede Reaktion unerlässlich mindestens 3 verschiedene Antigene anzuwenden. Manche Untersucher empfehlen zur Dosierung eine Mischung von Extrakten, welche sie als Hauptantigen bezeichnen.

Das ist jedoch kaum zu empfehlen, ist es doch durchaus nicht selten, dass die Mischung hochgradiger hemmend wirkt als die einzelnen Extrakte, welche sie zusammensetzen.

Es empfiehlt sich ferner Extrakte verschiedener Herkunft zu verwenden; z. B. eines aus Menschenherz und ein zweites aus Ochsenherz; endlich ein drittes aus Ochsenherz, verstärkt durch Cholesterinlösung. SACHS empfiehlt, zu 1 gr. Ochsenherz oder Meerschweinchenherz 5 ccm. Alkohol hinzufügen und dann 2 Tage lang bei einer Temperatur zehn Grad unter Null aufzubewahren. Nach dem Absitzen filtriert man und vermischt das Filtrat mit einer Cholesterinlösung von 1:1000 oder 1:2000. Zuweilen muss das Extrakt erst verdünnt werden; man setzt dann 0,8 o/o Cholesterin zu.

Jedes Extrakt sollte überdies mit verschiedenen Proben von syphilitischen und Normalseris geprüft werden; man wähle besonders solche, die nach ihrem Werte bekannt sind, da man nur so beurteilen kann, inwiefern sich das Produkt für die Wassermannsche Reaktion eignet. Natürlich hat diese Prüfung, welche die Basis jeder Untersuchung bildet, nur dann einen vollen Wert, wenn sie durch geübte Untersucher gemacht wird. Die Prüfung des Extrakt bloss mit einem Serum von sekundäres Syphilis — das mit einem Standardextrakt positive Resultate gibt — empfiehlt sich nicht, sondern man verwende auch andere, bei denen früher ge-

nhã não preencher as condições acusando um resultado negativo.

Antes de fazer estes ensaios é preciso com a maxima cautela pesquisar o poder impediênte do extrato porque a menor ação neste sentido pode determinar um resultado falso, devido á somação de efeitos de ação impediênte de extrato e soro. Dá-se ás vezes o caso de um extrato impedor proporcionar resultado negativo devido á presença de hemolisinas ou substancias auxilíticas no soro.

Se possível deve se usar ainda de rigor maior ensaiando o com soro de ação impediênte.

Na pratica corrente temos empregado as dozes aconselhadas na primitiva tecnica por WASSERMANN; recomendamos porem a dosagem quantitativa para verificar qual a maior quantidade que não impede ação hemolítica para então, de acordo com o resultado, diluir ou concentrar o extrato. Nessas diluições convem ter presentes os trabalhos de SACHS — RONDONI que tivemos ocasião de confirmar.

A diluição de um extrato alcoolico em solução fisiologica quando fracionada dá lugar a um produto turvo e exerce forte impedimento. Apezar de todos estes cuidados não se deve esquecer de fazer um tubo testemunha com antígeno porquanto mais de uma verificação existe do extrato impedir subitamente a hemolise.

São interessantes os trabalhos de BLACK e FRIEDEMANN que conseguiram reativar extratos, que guardados na geleira tinham provado inativos, colocando-os na estufa a 37° durante 3 dias. Algumas horas a 40° ou vinte quatro horas a 37° não eram suficientes. Quando voltava para a geleira o extrato de novo tornava se inativo.

Alguns de nossos extratos conservados no «Frigor» e tornados inativos levados á estufa não puderam ser reativados. E' verdade que os autores citados confirmam que não conseguiram com qualquer extrato este resultado. Apezar disto tivemos sempre o cui-

mache Reaktionen ein schwach positives Resultat gaben. Vernachlässigt man diese Vorsichtsmassregel, so erhält man ein Extrakt von schwankendem Werte, welches mit einem an spezifischen Produkten armen Serum eine negative Reaktion geben kann, oder es kann heute ein positives Resultat geben und vielleicht schon morgen negativ reagieren, wodurch es sich als den Ansprüchen nicht genügend erweist.

Bevor man diese Versuche anstellt, soll man zuvor mit aller Genauigkeit auf hemmende Wirkung prüfen, da schon ein geringer Grad derselben durch Summierung der hemmenden Wirkungen von Extrakt und Serum ein falsches Resultat herbeiführen kann. Zuweilen kommt es vor, dass ein hemmendes Extrakt wegen der Anwesenheit von Haemolysinen und auxilytischen Substanzen ein negatives Resultat gibt.

Wenn möglich, soll man noch strenger vorgehen, indem man es mit einem Serum von hemmender Wirkung ausprobiert.

In der Regel habe ich die bei der ursprünglichen Wassermannschen Technik empfohlenen Dosen angewendet; jedoch empfehle ich die quantitative Dosierung zur Bestimmung der grössten Menge, welche die Haemolyse in keiner Weise hemmt, um alsdann je nach dem Resultate das Extrakt zu dünnen oder zu konzentrieren. Bei diesen Verdünnungen berücksichtige man die Arbeiten von SACHS — RONDONI, deren Angaben ich bestätigen kann.

Wird die Verdünnung eines alkoholischen Extraktes mit Kochsalzlösung funktioniert gemacht, so bildet sich ein trübes und stark hemmendes Produkt. Trotz aller Vorsichtsmassregel vergesse man nicht, Kontrolltubus mit Antigen auszusetzen, da zuweilen das alkoholische Extrakt plötzlich hemmend wirkt.

Von Interesse sind hier die Arbeiten von BLACK und FRIEDEMANN, denen es gelang, Extrakte, welche nach Aufbewahrung im Eisschranke sich inaktiv zeigten, zu reaktivieren, indem sie dieselben während 3 Tage im Thermostat bei 37° aufbewaluten.

dado de retirar da geleira o extrato e deixá-lo algum tempo no laboratório empregando depois de adquirir a temperatura ambiente. Dos extratos o mais durável é o alcoólico. Tivemos excepcionalmente ocasião de trabalhar com o mesmo extrato alcoólico durante um ano.

Os antígenos de constituição química definida não são recomendáveis nem mesmo o de SACHS e RONDONI, mistura de óleo ácido de sódio, ácido oleico, lecitina, água destilada e álcool em proporções diversas. FACCHINI VALENTINO atribue-lhe poder hemolítico. Ainda é o melhor, mas longe de bom.

Quanto ao soro do paciente um dos pontos muito discutidos é o da inativação bastando aquecê-lo durante 1/2 hora a 56°, embora queiram SACHS e ALTMANN que nesta temperatura e tempo se altere o poder de reação do soro.

É inexacto que nesta temperatura o complemento não seja destruído deixando em liberdade o suficiente para provocar hemólise como afirmam alguns pesquisadores. Exijam alguns aquecer o soro durante 1 hora, porque em 30 minutos resta no soro quantidade considerável de hemolisinas. Não só o aquecimento durante 1 hora não retira as hemolisinas como a ação da temperatura de 56° por tão dilatado prazo pode influir sobre o poder da reação como em raros casos pudemos observar.

O emprego do soro ativo humano levou nos a proclamar positivos vários casos verificados negativos com o soro inativado, fato verificado primeiramente por SACHS e confirmado depois por HALBERSTAEDTER, SWIFT, PLAUT E BOAS.

BOAS registou resultados positivos em indivíduos com intenso tratamento mercurial, quando o soro era ativo e o contrario, quando inativo. Existem ainda observações outras de resultados positivos com soro ativo de indivíduos com cancro, tuberculose e nefrite.

Dagegen einige Stunden bei 40° oder 24 Stunden bei 37° zu diesem Zwecke vermochten das nicht. Brachte man das Extrakt in den Eisschrank zurück, so wurde es wieder inaktiv.

Einige meiner Extrakte, welche durch den Aufenthalt im «Frigo» inaktiv geworden waren, konnten im Thermostat nicht reaktiviert werden. Uebrigens ist auch den oben genannten Untersuchern dieser Versuch nicht bei jedem Extrakt geglückt. Nichtsdestoweniger habe ich jedes Mal das Extrakt, nach der Herausnahme aus dem Eisschrank eine Zeit lang im Laboratorium stehen lassen, sodass es bei Zimmertemperatur angewandt wurde. Am dauerhaftesten erweist sich das alkoholische Extrakt; so konnte ich ausnahmsweise ein solches Extrakt noch nach Jahresfrist verwenden.

Die chemisch definierten Antigene, selbst das von SACHS und RONDONI (eine Mischung von saurem Natriumoleat, Oleinsäure, Lecithin, destilliertem Wasser und Alkohol in bestimmten Verhältnissen) sind nicht zu empfehlen. FACCHINI VALENTINO glaubt sogar, dass es haemolytisch wirkt. Es ist zwar das beste, aber trotzdem durchaus nicht gut.

Die Inaktivierung des Serums des Kranken bildet eine viel umstrittene Frage. Erwärmung desselben auf 56° während einer halben Stunde genügt vollkommen, obwohl diese Temperatur nach SACHS und ALTMANN die Reaktion des Serums beeinflussen soll. Es ist nicht richtig, dass das Komplement bei dieser Temperatur unvollständig zerstört werde, und, wie von einigen Untersuchern behauptet wird, genügend übrig bleibe, um Haemolyse zu bewirken. Einige Autoren empfehlen Erhitzen des Serums während 1 Stunde, da nach 30 Minuten noch eine beträchtliche Menge von Haemolysinen im Serum verbleibt. Allein auch ein Erhitzen während 1 Stunde schliesst Haemolysine nicht aus, und eine so lange andauernde Einwirkung von 56° kann den Reaktionsgrad beeinflussen, wie ich es einige Male beobachten konnte.

A formação de complementoides é um dos inconvenientes da inativação. Quando em grande proporção no soro podem falsear o resultado.

Para esta causa de erro WECHSELMANN primeiro chamou atenção recomendando tratar o soro com sulfato de bário.

BLUM acredita que do soro assim tratado desaparecem também os amboceptores hemolíticos.

Empregamos sempre o sulfato de bário de preparo recente adicionando para isto 10 cc. de cloreto de bário a 5 0/0 a 15 cc. de sulfato de sodio em solução a 5 0/0. Depois de centrifugado lavamos com solução fisiologica para fazer uma suspensão em 25 cc. de sol fisiologica.

A 0,9 de soro inativado juntamos 3 de solução fisiologica e 0,5 cc. de suspensão a 7 0/0 de sulfato de bário.

Em 54 cazos em que empregámos comparativamente o metodo de WASSERMANN e o de WECHSELMANN registámos 41 casos positivos ou 75 0/0 pelo primeiro metodo e 44 ou 81 0/0 pelo segundo.

Outra questão importante a estudar é a dos amboceptores normais que sempre que possivel devem ser eliminados. De todos os metodos indicados para este fim o mais recomendavel é o de saturação por estromas ou simplesmente por globulos lavados.

ROSSI recomenda adicionar 0,5 cc. de globulos lavados a 1,5 cc de soro inativado centrifugando apoz 2—30 minutos de permanencia na geleira para então decantar.

JACOBÆUS lembra adicionar 0,2 de soro, 1 cc de suspensão a 5 0/0 de globulos lavados e 2,5 cc de solução fisiologica visando com esta tecnica retirar do soro amboceptores e complementoides.

Bei Gebrauch eines aktiven Menschen serums gaben verschiedene Fälle ein positives Resultat, während es mit inaktiviertem Serum negativ ausfiel, was zuerst SACHS beobachtete, und später von HALBERSTÄEDTER, SWIFT, PLAUT und BOAS bestätigt wurde. Nach intensiver Quecksilberbehandlung verzeichnet BOAS positive Resultate mit aktivem Serum, und negative mit inaktiviertem.

Es gibt auch Beobachtungen über positive Resultate mit aktivem Serum von Patienten mit Karzinom, Tuberkulose und Nephritis.

Einer der Nachteile der Inaktivierung ist die Bildung von Komplementoiden; befinden sich dieselben in grosser Menge im Serum, so können sie zu einem falschen Resultate führen.

Auf diese Fehlerquelle machte WECHSELMANN zuerst aufmerksam und empfahl Behandlung des Serums mit Baryumsulfat. BLUM glaubt sogar, dass durch diese Behandlung die haemolytischen Amboceptoren aus dem Serum verschwinden.

Ich habe das Baryumssulfat stets frisch zubereitet angewendet, indem ich 10 ccm. einer 5 0/0 Lösung von Chlorbaryum 15 ccm. einer 5 0/0 Natriumsulfatlösung versetzte, zentrifugierte und dann den Niederschlag in 25 ccm. physiologischer Kochsalzlösung aufflösste.

Zu 0,9 inaktivierten Serums fügte ich 3 ccm. physiologischer Lösung und 0,5 ccm. einer 7 0/0 Baryumsulfatsuspension.

Bei 54 Fällen, wo zum Vergleiche die WASSERMANN'sche und die WECHSELMANN'sche Methode benutzt wurde, waren bei Anwendung der ersten Methode 41 Fälle positiv (=75 0/0), bei der zweiten 44 (=81 0/0).

Eine andere wichtige Frage, die hier besprochen werden soll, betrifft die Normalamboceptoren, welche nach Möglichkeit ausgeschieden werden müssen. Von allen hierfür empfohlenen Methoden ist die Sättigung durch gewaschene Blutkörperchen oder das Stroma solcher, was einfacher ist, die beste.

Apoz meia hora de permanencia na estufa a 37° centrifuga e decanta.

Outra tecnica lembrada é a de adicionar a 2 cc de soro inativado 8,9 cc de uma suspensão a 5 % de globulos lavados, centrifugar e decantar apoz 1/2 hora de permanencia na estufa a 37°.

MINTZ recomenda tratar o soro por globulos de carneiro para retirar amboceptores e complementoides. A 0,4 de soro adiciona 1,6 cc de solução fisiologica e 2 cc de globulos de carneiro em suspensão a 5 %. A permanencia na estufa é de 1/2 hora.

A saturação dos amboceptores hemoliticos por estromas globulares forneceu nos muitas vezes, quando o soro era rico em hemolisinas, excelente resultado. Nunca vimos um soro normal dar resultado positivo depois da absorção das hemolisinas.

Nem todos os pesquisadores são partidarios da retirada dos amboceptores normais do soro. BRIEGER e RENZ, pelo contrario, lembram utilisal-os para a reação reforçando os pelo clorato de potassio em solução a 1:150. GARBAT, MUNK, LEVY, HAYNN e SCHMITT negam a este produto químico a ação que lhe atribuem.

Negada por uns, aceita por outros o papel atribuido ao clorato de potassio é exercido pelas proprias hemolisinas em quantidade maior ou menor. Retirámos do soro com estromas as hemolisinas e adicionámos clorato de potassio na proporção indicada e o resultado foi totalmente negativo.

Continuando ainda a estudar o soro do doente lembramos outras precauções que se devem tomar. Uma delas é a pratica da reação nas 24 horas que se seguem á colheita do sangue.

Um soro, embora normal quando examinado, apoz conservação durante 36 ou 48

ROSSI empfiehlt, 1,5 ccm. inaktivierten Serum zu 0,5 ccm. gewaschener Blutkörperchen zuzusetzen, die Flüssigkeit 2—30 Minuten im Eisschrank aufzubewahren und dann zu zentrifugieren und abzugießen.

JACOBÆUS schlägt vor, zu 0,2 ccm. Serum und 1 ccm. einer 5 % Suspension von gewaschenen Blutkörperchen 2,5 ccm. einer Kochsalzlösung zu versetzen, um so die Amboceptoren und Komplementoide aus dem Serum zu entfernen. Nach einer halben Stunde im Thermostat bei 37°, zentrifugiert man und giesst ab.

Vorgeschlagen ist auch folgende Technik: zu 2 ccm. inaktivierten Serums fügt man 8,9 ccm. einer 5 % Suspension von gewaschenen Blutkörperchen, zentrifugiert und giesst ab, nachdem die Mischung eine halbe Stunde lang im Thermostat bei 37° gestanden hat.

MINTZ empfiehlt dem Serum Hammelblutkörperchen zuzusetzen, um Amboceptoren und Komplementoide zu entfernen. 0,4 ccm. Serum werden mit 1,6 ccm. Kochsalzlösung u. 2 ccm. von einer 5 % Suspension von Hammelblutkörperchen gemischt und eine halbe Stunde im Thermostat aufbewahrt. Bei Sättigung der haemolytischen Amboceptoren durch Erythrocytenstroma habe ich öfters ausgezeichnete Resultate erzielt, wenn das Serum reich an Haemolysinen war. Niemals sah ich ein Normalserum nach Absorption der Haemolysine ein positives Resultat geben.

Nicht alle Forscher sind Anhänger der Beseitigung der Normalamboceptoren aus dem Serum. BRIEGER und RENZ schlagen vielmehr vor, dieselben für die Reaktion zu verwenden, indem sie durch eine Lösung chlorsäures Kali (1:150) verstärkt werden. GARBAT, MUNK, LEVY, HAYNN und SCHMITT bestreiten die diesem chemischen Produkte zugeschriebene Wirkung.

Die einerseits bestrittene Funktion, andererseits behauptete des chlorsäuren Kali von Haemolysinen selbst in grösserem und kleinerem Massstabe ausgeübt. Entfernte ich die Haemolysine aus dem Serum mittelst des Stomas von Erythrocyten und fügte

horas na geleira, devido ao aparecimento dos denominados corpos impiedentes poderá dar resultado fracamente positivo. Estes casos embora pouco comuns devem ser evitados.

Muito se tem escrito sobre soros paradoxais que aparecem entre os soros que apoz inativação se guardam por longo tempo na geleira.

Cuidadoso exame de antígeno, bem assim do soro hemolítico diminue consideravelmente o numero destes soros.

Não tivemos ocasião de observar a transformação do resultado francamente positivo para negativo ou vice-versa, quando preenchidas todas as condições exigidas: emprego de diversos antígenos, dosagem recente do soro hemolítico e do complemento. Se a tecnica não for rigorosa e os antígenos não tiverem sido experimentados com o cuidado descrito pode se dar o caso, conforme observação nossa, que um soro tendo reajido antes como fracamente positivo em verificação posterior se manifeste positivo ou negativo.

Hoje com o apuro da tecnica o numero destes casos diminue sensivelmente e embora admitido que qualquer antígeno pode falhar uma vez, tivemos na pratica o cuidado, e por isto recomendamos-o, de eliminar qualquer antígeno que apresente ação impiedente.

Sobre o complemento digamos que é certamente util dozal-o, quer com o sistema hemolítico, quer em presença do extrato. A' força de se repetir que o soro de cobaia é de todo o mais estavel o que constitue verdade tem se esquecido que ha variações individuais de uma para outra cobaia. Para maior rigor poder se a fazer uma dosagem do poder absorvente de complemento que exerce o soro do doente, contribuindo assim para afasiar resultados positivos provenientes de somação de efeitos devidos a ação impiedente de extrato e soro.

chlorsäures Kali in der oben angegebenen Weise zu, so war das Resultat ganz negativ. Noch andere Vorsichtsmassregeln sind beim Studium des Serums der Patienten zu berücksichtigen: so soll z. B. die Ausführung der Reaktion in den nächsten 24 Stunden nach der Blutentnahme ausgeführt werden. Selbst normales Serum kann bei der Untersuchung, wenn es 36 oder 48 Stunden im Eisschrank gestanden hat, infolge Auftretens der sogenannten Hemmungskörper ein schwach positives Resultat geben. Dieser Fall ist zwar selten, muss aber doch berücksichtigt werden.

Viel besprochen sind auch die paradoxen Sera, das heisst, solche, welche man unter den nach ihrer Inaktivierung lange Zeit im Eisschrank aufbewahrten Serumproben findet. Genaue Untersuchung des Antigens und des haemolytischen Serums führt zur grosser Verminderung solcher Fälle.

Ich habe keine Gelegenheit zu beobachten gehabt, dass ein deutlich positives Resultat in negativ umschlag oder umgekehrt, selbstverständlich unter der Voraussetzung, dass alle nötigen Bedingungen richtig erfüllt wurden, wie die Anwendung von verschiedenen Antigenen, Dosierung des haemolytischen Serums und des Komplements kurz vor Anwendung. Wenn also die Technik nicht genau befolgt wird und die Antigene nicht zuvor sehr sorgfältig ausprobiert wurden, kann es geschehen, wie selber beobachtete, dass ein vorher schwach positiv reagierendes Serum bei späterer Untersuchung positive oder negative Wirkung zeigt.

Heutzutage geht die Zahl solcher Fälle dank der Verfeinerung der Technik immer mehr zurück, und wenn auch zugegeben werden muss, dass ein jedes Antigen gelegentlich ein Mal versagen kann, so trachtete ich doch bei meinen Arbeiten jedes hemmend wirkende Antigen auszuschalten und kann diese Vorsichtsmassregel nur empfehlen.

Was das Komplement anbetrifft, halte ich es entschieden für angebracht, dasselbe zu dosieren, sowohl im haemolytischen System als auch in Gegenwart des Extraktes.

Quanto aos globulos a variação individual do numero e da fragilidade das hematias de carneiro, nem sempre evitavel, deve ser cerceada o mais possivel, empregando carneiros que tenham descansado algum tempo. Em carneiros muitas vezes sangrados não só se pode observar hemolise espontanea, mas ainda o que é fato mais curioso — aglutinação intensa dos globulos impedindo pronunciar-se sobre o resultado.

Mudemos agora de rumo para estudo de algumas modificações que no correr dos estudos tivemos ocasião de empregar.

Das modificações que se tem apresentado visam algumas simplificar a tecnica e outras aumentar a sensibilidade. As tentativas de simplificação tem provado prejudiciais porque redundam em sacrificio do rigor.

Embora paradoxal, parece nos que não haveria inconveniente em tornar ainda mais complexa a tecnica desde que com isto aumente a sensibilidade e portanto a especificidade, porquanto a reação não deve ser posta ao alcance de todos.

Na Dinamarca é este o modo de encarar o problema pois o Instituto oficial reservou para si o direito exclusivo de praticar a reação.

Aplaudimos os metodos que procuram tornar mais sensivel a reação. Não devemos continuar no mesmo ponto em que estivemos ha seis anos quando WASSERMANN publicou o primeiro trabalho. Não é racional que se mantenha a reação rigorosamente dentro da primitiva tecnica com o fito unico de facilitar a estatistica. Sirva de base o trabalho original permitindo a introdução de alterações que a pratica tenha provado vantajosas.

As modificações em que se procurou diminuir as doses a empregar tem a desvantagem de aumentar as causas de erro. Quan-

In Folge der immer wiederholten Versicherung, dass das Meerschweinchenserum von allen das stabilste — was allerdings der Wahrheit entspricht — hat man ganz vergessen, dass unter den einzelnen Meerschweinchen individuelle Verschiedenheiten vorkommen. Behufs noch grösserer Genauigkeit kann man die Absorptionsfähigkeit für das Komplement des Patientenserums bestimmen; auf diese Weise vermeidet man positive Resultate, welche durch Immunisierung der hemmenden Wirkung des Extraktes und des Serums entstehen. Die individuelle Schwankung der Blutkörperchenzahl und der Fragilität der Hammelhematien, die sich nicht ganz ausschliessen lässt, ist nach Möglichkeit eingeschränkt, indem man die Hammel einige Zeit ausruhen lässt. Bei Hämmeln, denen oftmals Blut entnommen wurde, kann man nicht nur spontane Haemolyse, sondern auch, was besonders merkwürdig ist, eine intensive Agglutination der Blutkörperchen beobachten, wodurch die Beurteilung des Resultates gestört wird.

Ich wende mich nun zur Besprechung der Modifikationen, welche ich gelegentlich bei meinen Arbeiten benutzte. Dieselben streben einerseits eine Vereinfachung der Technik an, andererseits eine Erhöhung der Empfindlichkeit der WASSERMANN'schen Reaktion. Die Versuche, die Technik zu vereinfachen, habe keine besondere Erfolge gehabt, weil die Genauigkeit darunter leidet.

Es mag vielleicht befremden, dass ich es nicht für unzumässig halte, die Technik noch komplizierter zu gestalten, unter der Bedingung natürlich, dass damit die Empfindlichkeit und damit auch die Spezifität gesteigert wird, denn es ist gar nicht nötig, dass die Ausführung einem jeden zugänglich sei. In Dänemark ist dies die vorherrschende Auffassung, denn dort reserviert sich das staatliche Institut das ausschliessliche Recht der Ausführung dieser Reaktion.

Alle Methoden, welche bezwecken, die Empfindlichkeit der Reaktion zu erhöhen, verdienen meinen Beifall. Wir dürfen deshalb nicht auf demselben Standpunkte blei-

to aos metodos que empregam o prejudicial sistema de gotas é tal a irregularidade das mesmas que, diversas vezes, repetindo o ensaio no mesmo dia, sempre com os mesmos elementos, obtivemos resultados diversos. Ha ainda a registrar a influencia da tensão superficial de modo que as microreações de WEIDANZ e ENGEL, de MÜLLER e outros são segundo experiencia propria condenaveis.

Em dois grupos se dividem as modificações aventadas conforme tomam por indice a fixação de complemento ou a precipitação de albuminas ou lipoides, salientando entre estas como das mais interessantes a precipitação verificada ao ultra-microscopio por JACOBSTHAL, quando ao extrato junta soro de sifilitico, o que no dizer de proprio autor não pode substituir a reação de WASSERMANN.

No primeiro grupo temos a modificação de BAUER que recomenda empregar a hemolisina normal do soro do doente. A reação não permite o testemunha que visa excluir a possibilidade de haver por parte do extrato ação impediente, de modo que em raros casos observámos quando comparativamente praticavamos a reação de WASSERMANN e de BAUER que o extrato não funcionava e a ausencia de hemolise na reação de BAUER traduzir se ia por um resultado positivo se não tivéssemos na ocasião a contra prova. Era isto o suficiente para condenar em absoluto o metodo.

Acrece ainda a variação das hemolisinas dando se ás vezes o caso de 0,1 cc de soro destruir 1 cc de suspensão a 5 % de globulos e outras de haver no soro quantidade minima como acontece nas mulheres gravidas e creanças de peito. Alem das observações de diminuição de complemento tambem as ha

ben, wie vor 6 Jahren, als WASSERMANN seine erste Arbeit veröffentlichte.

Es ist nicht rationell, bei dieser Reaktion die ursprüngliche Technik stricte beizubehalten, nur um die Statistik zu erleichtern. Die Originalmethode bleibe als Grundlage, gestatte aber die Einführung derjenigen Modifikationen, welche die Erfahrung als vorteilhaft erwiesen hat.

Die Modifikationen, welche die Antigenmengen zu verringern suchen, haben den Nachteil, dass sie an Fehlerquellen vermehren.

Bei den Verfahren, welche sich der nicht zu billigenden Tropfenmethode bedienen, ist die Ungenauigkeit so gross, dass ich wiederholt verschiedene Resultate erhielt, wenn ich die Reaktion zweimal ausführte, obgleich ich mit denselben Faktoren arbeitete. Dabei ist noch die Oberflächenspannung zu berücksichtigen, sodass die Mikroreaktionen von WEIDANZ und ENGEL, von MÜLLER, u. a. nach meiner Meinung verworfen werden müssen.

Man kann die vorgeschlagenen Aenderungen in 2 Gruppen teilen, je nachdem man von der Komplementbindung oder von der Präzipitierung der Albumine und der Lipoide ausgeht; unter den letzteren, ist die interessanteste die Präzipitierung, welche JACOBSTHAL im Ultramikroskop beobachtete, wenn er dem Extrakte Syphilitikerserum zusetzte, was aber nach seiner eigenen Angabe die WASSERMANN'sche Reaktion nicht ersetzen kann.

Zur ersten Gruppe gehört die Modifikation von BAUER, welcher vorschlägt, die normalen Haemolysine des Patientenserums anzuwenden. Diese Reaktion gestattet keine Gegenprüfung, welche die Möglichkeit einer hemmenden Wirkung von Seiten des Extraktes ausschliessen könnte, sodass ich, wenn zum Vergleiche die WASSERMANN'sche und BAUER'sche Reaktionen gemacht wurden, in einzelnen Fällen beobachten konnte, dass das Extrakt keine Wirkung ausübte, und das Ausbleiben der Haemolyse in der BAUER'schen Reaktion als positives Resultat gelten müsste, wenn ich bei diesen Ge-

de amboceptor em casos de resfriamento, alcoolismo, molestias infetuosas diversas, entre elas a sífilis e desta diminuição deve participar mui as vezes o resultado.

Observámos variações individuais muito largas na proporção de hemolisinas no soro. O proprio autor admitt'e casos de insuficiencia de amboceptores, lembrando então adicionar soro humano normal inativado. E' curioso chamar de simplificação este metodo, porque bem executado exige a dosagem de hemolisinas do soro a empregar e do soro que se tenha de adicionar e que deve ser rigorosamente normal o que nem sempre é facil obter. Exige portanto todas estas dificuldades para evitar o preparo do soro hemolitico tão facil de se obter e conservar. Não se diga que a quantidade de soro necessaria seja menor que na reacção de WASSERMANN porque quem fizer todas estas dosajens precisará grande quantidade de soro e no final não terá as mais importantes testemunhas. Pareceria inutil empregar a reacção depois dos inconvenientes apontados, mas mesmo assim ensaiamos-a em comparação com a de WASSERMANN. Entre casos de sífilis nos tres periodos empregámos a reacção em 50 doentes e obtivemos 37 ou 74 % positivos na reacção de WASSERMANN e 31 ou 62 % na de BAUER. Estes porem não podiam merecer inteira fé.

Em 3 casos de malaria e dois de pneumonia em que tanto quanto é possivel acreditar na anamnese e no exame clinico se poderia excluir o diagnostico de sífilis o resultado foi fracamente positivo pelo metodo de BAUER e negativo pelo de WASSERMANN. Tentámos ainda a modificação de STERN embora dosajens diversas nos tivessem provado a variabilidade do poder complementar do soro humano.

legenheiten nicht die Gegenprobe gehabt hätte. Dieser Grund war hinreichend, um absolut das Verfahren zu verwerfen.

Dazu kommen noch die grösseren oder kleineren Variationen der Haemolysinmenge, sodass einmal 0,1 ccm. instande ist 1 ccm. von 5 % Blutkörperchensuspension zu zerstören, während ein anderes Mal, z. B. bei Schwangeren und Säuglingen sich im Serum nur eine ganz minimale Menge vorfindet. Ausser den Beobachtungen, wo das Komplement vermindert war, gibt es auch solche mit Verminderung der Amboceptoren, z. B. bei Erkältungen, Alkoholismus, verschiedenen Infektionskrankheiten, darunter auch die Syphilis, wodurch gar oft das Resultat beeinflusst wird.

Sehr grosse individuelle Schwankungen habe ich im Gehalte des Serums an Haemolysinen beobachtet. BAUER selbst gibt zu, dass Fälle von Amboceptoreninsuffizienz vorkommen, und in diesem Falle schlägt er vor, normales, aber inaktiviertes Menschenserum hinzufügen. Es ist übrigens sonderbar, ein solches Verfahren ein vereinfachtes zu nennen, denn seine exakte Ausführung verlangt die Dosierung der Haemolysine, sowohl im untersuchten, als auch im hinzugefügten Serum; letzteres muss überdies noch ganz normal sein, was auch nicht immer leicht zu erlangen ist. Mit alle diesen Schwierigkeiten muss man rechnen, um die Herstellung des haemolytischen Serums zu meiden, welches doch so leicht zu bereiten und zu konservieren ist. Auch sage man nicht, dass eine geringere Menge Serums nötig als bei der WASSERMANN'schen Reaktion, denn wer alle diese Dosierungen macht, braucht eine grosse Menge von Serum und am Ende hat er doch nicht die wichtigsten Kontrollen. Bei den soeben gezeigten Nachteilen könnte es zwecklos erscheinen, diese Reaktion anzuwenden; trotzdem aber habe ich sie erprobt, um sie mit der von WASSERMANN zu vergleichen. In 50 Syphilisfällen aller 3 Perioden habe ich diese Reaktion mit folgendem Resultate verwendet: 37 (= 74 %) waren positiv nach WASSERMANN und 31 (= 62 %) nach

Tivemos realmente impedimento de hemolise por este metodo quando era negativo o WASSERMANN. Não sabemos porem se é possível considerar positivos estes casos. Na sífilis como na maior parte das moles-tias infetuosas diminue muito o poder complementar do soro. Neste sentido ha cuidadosos trabalhos de JOUSSET e PARASKO-VEPOULOS, JACOBÆUS, BACHMANN e KÄTHE.

FRITZ HOEHNE e R. KALT viram casos em que empregavam 0,2 cc de soro para ter o complemento necessario ao passo que em outros 0,01 cc possuia dose suficiente.

Pelo metodo de STERN empregado em 50 outros casos tivemos 25 ou 50 % positivos e 32 ou 64 % pelo de WASSERMANN.

TSCHERNOGUBOW e GURD FRAZER empregam hemolisina normal de soro humano para globulos de cobaia e complemento do soro do doente. Da discussão a proposito de outras modificações conclue se facilmente os prejuizos do metodo em questão.

Em 40 casos tivemos 29 ou 72,5 % positivos na reação de WASSERMANN e 18 ou 45 % na de TSCHERNOGUBOW.

O metodo de HECHT que joga com o complemento e hemolisina para globulos de carneiro, do soro a examinar, sendo uma combinação de 2 metodos condenados, participa dos defeitos de um e outro e por isto resolvemos não experimental-o na pratica.

O metodo de FLEMING que emprega extrato de coração humano que se prepara adicionando 5 cc de alcool absoluto a 1 gr. de coração para depois aquecer a 60° durante uma hora. Deixa se sedimentar a 37° durante 24 horas para depois diluir com solução fisiologica até atinjr o ponto do fixar complemento sem determinar hemolise devido ao alcool.

EAUER, doch konnte diese nicht als voll-giltig betrachtet werden.

In 3 Malariafällen und in 2 von Pneumonie, wo man, soweit auf Grund der Anamnese und des klinischen Examens die Diagnose Syphilis ausgeschlossen werden konnte, war das Resultat mit der BAUER'schen Methode schwach positiv und negativ mit der WASSERMANN'schen.

Ich versuchte auch die von STERN angegebene Modifikation, obwohl mir verschiedene Bestimmungen die Variabilität des Komplementengehaltes im menschlichen Serum gezeigt hatten. Tatsächlich erfolgte bei dieser Methode eine Hemmung der Haemolyse, wenn die WASSERMANN'sche Reaktion negativ war, doch weiss ich nicht, ob man solche Fälle als positiv ansprechen darf. Der Komplementgehalt des Serums ist bei Syphilis, sowie auch bei den meisten Infektionskrankheiten beträchtlich abgesetzt. Ueber diese Frage sind von JOUSSET und PARASKOVEPOULOS, JACOBÆUS, BACHMANN und KÄTHE sorgfältige Untersuchungen ausgeführt worden.

FRITZ HOEHNE und R. KALT brauchten in einigen Fällen 0,2 ccm. Serum, um die nötige Menge Komplement zu erhalten, während in anderen schon 0,01 ccm. hinreichte.

In 50 Fällen, wo ich die STERN'sche Methode anwandte, waren nur 25 Fälle (= 50 %) positiv, während diejenige von WASSERMANN 32 (= 64 %) ergab.

TSCHERNOGUBOW und GURD FRAZER benutzten das Haemolysin eines Serums von normalen Menschen für Meerschweinchenblutkörperchen und Komplement des Serums eines Patienten. Aus den Diskussionen, die bei Gelegenheit andere Modifikationen sich zu erheben pflegen, ergeben sich die Nachteile der respektiven Modifikation. In 40 Untersuchungen hatte ich 29 (= 72,5 %) positive Ergebnisse mit der WASSERMANN'schen Reaktion, bei der von TSCHERNOGUBOW dagegen nur 18 (= 45 %).

Ich unterliess es, die Methode von HECHT zu untersuchen, da sie eine Kombination

Usamos de relativa asepsia na obtenção de globulos de carneiro ao contrario do autor que recebe o sangue do matadouro e ainda o guarda durante sete dias no laboratorio.

São utilizadas as hemolisinas normais e o complemento do soro do doente e quando faltam as primeiras adiciona se mais soro humano normal contendo complemento e amboceptor.

Faltam os testemunhas de importancia, ha a possibilidade de se empregar excesso de complemento e ha a obrigação de se proceder á reação pouco depois de sangrado o doente, se bem que o autor afirme que empregou soro guardado no laboratorio ou na geleira durante uma semana.

Em 40 casos examinados tivemos 30 ou 75 % positivos pelo metodo de WASSERMANN e 20 ou 50 % pelo de FLEMING.

W. D'ESTE EMERY emprega complemento de soro do paciente e hemolisinas de coelho para globulos humanos. O antígeno é o extrato alcoolico de coração normal. Trata se de uma reação de quantidades muito pequenas e que se passa em tubos capilares em termostato para opsoninas. A extrema simplicidade do processo que consta de dois tubo tendo alem do soro e sistema hemolitico, um o extrato e outro solução fisiologica, fez com que nem cojitassemos de empregar-o.

RÉNÉ BERNARD e JOLTRAIN aconselham o emprego de complemento e hemolisina de soro humano e globulos de carneiro. Toda a reação se processa em 10-20 minutos na estufa. No processo classico de WASSERMANN não conseguimos que na estufa os tubos tomassem neste tempo a temperatura ambiente.

von 2 bereits verworfenen Methoden ist, und die Fehler beider vereinigen muss: bei derselben werden Komplement und Haemolysine für Hammelblutkörperchen und die des zu untersuchenden Serums verwendet.

Die FLEMMING'sche Methode gebraucht Extrakt von Menschenherz, welches dadurch gewonnen wird, dass man zu 1 gr. Herz 5 ccm. Alkohol ab- und hinzufügt und dann eine Stunde lang auf 60° erwärmt. Dann lässt man bei einer Temperatur von 37° während 24 Stunden absitzen, um dann solange mit Kochsalzlösung zu verdünnen, bis das Komplement gebunden wird und keine Haemolyse durch den Alkohol hervorgerufen wird. Ich habe die Blutentnahme beim Hammel mit relativer Asepsis ausgeführt, während FLEMMING das Blut aus dem Schlachthause bezieht und ausserdem noch während 7 Tage im Laboratorium aufbewahrt. Man benützt normales Haemolysin und das Komplement des Krankenserums, und wenn erstere fehlen, fügt man noch mehr normales Serum hinzu, welches Komplement und Amboceptor enthält. Es fehlen die nötigen Kontrollproben bei der Gefahr einen Komplementenüberschuss anzuwenden; ausserdem muss die Reaktion bald nach Gewinnung des zu untersuchenden Blutes gemacht werden, obwohl FLEMMING angibt, Sera verwendet zu haben, welche schon eine Woche im Laboratorium oder im Eisschrank gestanden hatten. In 40 von mir untersuchten Fällen waren 30 (= 75%) positiv bei dem WASSERMANN'schen Verfahren und nur 20 (= 50%) bei dem FLEMMING'schen.

Das Komplement, mit welchem W. D'ESTE EMERY arbeitete, stammt aus dem Serum des Kranken und das Haemolysin für die Menschenerythrocyten von Kaninchenblut; das Antigen ist das alkoholische Extrakt eines normalen Herzens. Es handelt sich dabei um sehr kleine Mengen, deren Reaktion im Thermostat und in Kapillarröhrchen für Opsonine verfolgt wird. Das Verfahren, welches nur mit 2 Kapillaren arbeitet, welches ausser dem Serum und dem haemolytischen System einmal Ex-

FOIX lança mão das hemolisinas normais para globulos de coelho existentes no soro humano. Substitue a pipeta graduada pelas gotas e é o quanto basta para que se lhe negue sanção.

O metodo de VON DUNGERN não o empregámos nas condições por ele indicadas.

Empregámos no emtanto em diversas ocasiões o extrato de coração de cobaia que não funcionava muito bem. Não é bom o emprego do antijeno embebido em papel. Varias vezes falhou nos o complemento seco embebido em papel. Não é orijinal, alem de condenavel, este processo de fixar os elementos da reação em papel porque anteriormente empregado por NOGUCHI foi depois por ele abandonado.

Ha alem destas uma serie de modificações que se distinguem pelo sistema hemolitico empregado e que não tivemos o cuidado de verificar, tais são as de THOMSEN, DETRÉ, BALLNER, DECASTELLO, BROWNING, MCKENZIE, MASLAKOWITZ e LIEBERMANN.

Uma das mais recentes e atraentes modificações pela base científica apresentada é a de JACOBSTHAL que propõe realizar a primeira parte da reação em baixa temperatura.

Obteve assim mais 2 % de resultados positivos.

Em 20 casos em que 16 ou 80 % foram positivos pelo processo de WASSERMANN tivemos 14 ou 70 % pela modificação de JACOBSTHAL. Dois que foram positivos pela reação de JACOBSTHAL foram negativas pela de WASSERMANN e quatro positivos pelo metodo clasico não o foram quando observada a reação na geleira.

GUGGENHEIMER que acredita que em baixa temperatura creça o poder impediante

trakt und das andere Mal eine Kochsalzlösung enthalten, ist so primitiv, dass ich davon absah, es zu erproben.

RÉNÉ BERNARD und JOLTRAIN schlagen vor, Komplement und Haemolysin von Menschenserum und Hammelblutkörperchen zu verwenden. Die ganze Reaktion dauert nur 10—30 Minuten im Thermostat. Beim klassischen Verfahren von WASSERMANN genügt diese kurze Zeit nicht, um die Röhren im Thermostate auf die Bruttemperatur zu bringen.

FOIX benutzt die im normalen Menschenserum existierenden Haemolysine für Kaninchenblutkörperchen und ersetzt die graduirte Pipette durch die Tropfenmethode, ein für mich genügender Grund, um das Verfahren abzulehnen.

V. DUNGERN's Methode habe ich in der von ihm angegebenen Weise nicht benutzt, habe aber zu verschiedenen Malen mit dem Extrakt aus Meerschweinchenherz gearbeitet, welches sich nicht besonders tauglich zeigte. Auch die Verwendung des mit Antigen getränkten Papieres ist nicht zu empfehlen. Wiederholte Male hat das trockene am Papier fixierte Komplement sich nicht bewährt. Dieses Verfahren, die Elemente für die Reaktion von Papier aufsaugen zu lassen, ist weder neu noch zu billigen, wie denn auch NOGUCHI, der früher damit arbeitete, es später aufgab.

Es gibt ausser den genannten noch eine ganze Reihe von Modifikationen, welche sich durch das System der Haemolysin unterscheiden lassen und die ich nicht alle untersuchen wollte: so z. B. die von THOMSEN, DETRE, BALLNER, DECASTELLO, BROWNING, MCKENZIE, MASLAKOWITZ und LIEBERMANN.

Eine ganz neue und wegen ihrer wissenschaftlichen Grundlage anziehende Modifikation ist die von JACOBSTHAL; er schlägt vor, den ersten Teil der Reaktion bei niedriger Temperatur zu machen. Dabei stiegen die positiven Resultate um 2 %.

Bei 20 Syphilisfällen, wo das WASSERMANN'sche Verfahren 16 (= 80 %) positive Resultate ergab, erhielt ich mit der von

do extrato regista 8 % de casos negativos pelo processo de JACOBSTHAL e positivos pela tecnica primitiva.

Deixamos propositalmente para o fim o metodo de NOGUCHI que é uma das boas aquisições que tem feito a ciencia. Deixámos completamente de lado a tecnica do emprego de complemento amboceptor e antígeno embebido em papel pela inconstancia do titulo obtido na dosagem.

SLEESWIJK, e SWIFT PEDERSEN accusam o metodo de fornecer resultados não especificos e outros atribuem á precipitação formada entre a precipitina e o precipitino-jeno do soro humano os resultados registrados, o que é evidentemente exajerado.

Este metodo, que desde 1910 é oficialmente adotado no exercito americano, fornece resultados que muito se aproximam dos da reação de WASSERMANN.

Em 100 casos examinados tivemos 76 positivos pelo processo de WASSERMANN e 70 pelo de NOGUCHI.

Não se pode censurar a NOGUCHI pelos resultados positivos na lepra e boubá por quanto com a tecnica orijinal nestas duas molestias obtem se resultados identicos.

Temos observação de quatro casos de boubá em que foi um positivo, um negativo e dois fracamente positivos.

Embora secundario ha um ponto lembrado por NOGUCHI que se poderia aproveitar para os outros metodos é o do emprego da mistura de soro de 2 cobaias em cada ensaio.

Não nos parece que mereça a denominação de simplificação o metodo de NOGUCHI, porquanto a exigencia de um soro hemolitico para globulos humanos acarreta trabalho maior que o preparo de um outro para globulos de coelho. O preparo do extrato acetónico é mais difficil que o do alcoolico. E' certamente um processo sensível que se pode empregar ao lado do de WASSERMANN com grande vantajem.

JACOBSTHAL nur 14 (= 70 %). Zwei waren nach JACOBSTHAL positiv und bei WASSERMANN negativ, wenn die Reaktion im Eisschrank gemacht wurde.

GUGGENHEIMER, welcher glaubt, dass niedrige Temperatur die Hemmungskraft des Extraktes steigert, verzeichnet 8 % der Fälle als negativ mit dem Verfahren von JACOBSTHAL und als positiv mit der primitiven Technik.

Absichtlich habe ich die Methode von NOGUCHI zu Schluss gelassen; dieselbe bildet eine wirkliche Errungenschaft der Wissenschaft. Die Technik mit Komplement, Amboceptor und auf Papier fixiertem Antigen habe ich wegen der Unsicherheit bei der Bestimmung des erhaltenen Titers ganz ausgeschlossen.

SLEESWIJK und SWIFT PEDERSEN machen der Methode den Vorwurf, dass sie keine spezifische Resultate gäbe und andere schreiben der Fällung, welche durch die Verbindung des Präzipitins mit dem Präzipitinogen des menschlichen Serums entsteht, die als positiv verzeichneten Fälle zu, was augenscheinlich sehr übertrieben ist.

Diese Methode, welche seit 1910 beim Amerikanischen Heere offiziell angenommen ist, gibt Resultate, welche denen der WASSERMANN'schen Reaktion sehr nahe kommen.

Von 100 untersuchten Fällen habe ich mit der WASSERMANN'schen Reaktion 76 positiv gefunden und mit der von NOGUCHI nur 70.

Man kann NOGUCHI die positiven Resultate bei Lepra und Framboesie nicht vorwerfen, da solche auch mit der Originaltechnik erhalten werden. In 4 Fällen von Framboesie, die wir zur Beobachtung hatten, war das Resultat in einem Falle positiv, beim anderen negativ und in 2 schwach positiv.

Auch das Benutzen einer Serumischung von 2 Meerschweinchen für jede Reaktion, wie NOGUCHI vorgeschlagen hat, ist, obwohl nebensächlich, doch bei anderen Methoden verwertbar.

De todos os metodos é ainda o de WAS-SERMANN que nos merece mais confiança é o que recomendamos como metodo de diagnostico, que embora não sendo infalivel não é menos seguro que qualquer outro modo biologico.

Em 23 casos de sífilis primaria obtivemos 13 positivos ou 57 0/0, em 158 de sífilis secundaria 127 positivos ou 80 0/0 e em 201 de sífilis terciaria, 120 positivos ou 60 0/0. Diremos ainda algo sobre a transformação da reação de qualitativa em quantitativa. Seria de grande vantagem poder utilizar a dosagem quantitativa para indicações terapeuticas e de prognostico clinico.

Dos metodos de dosagem um dos mais antigos é o de NEISSER, BRUCK e SCHUCHT que primeiro lembraram verificar qual a maior quantidade de antígeno que em presença de quantidade fixa de soro sífilítico é capaz de fixar complemento.

Secam no vacuo o soro e empregam no como estalão. Fazem então o estudo comparativo entre o poder fixador de complemento do estalão e de outro soro que tenham a pesquisar, em presença do extrato que se emprega em doses decrescentes desde 0,2 até 0,005.

SORMANI e JOHN RODDY dosam a menor quantidade de complemento necessaria para produzir hemolise em presença do extrato e de soro. Embora de tecnica escrupulosa não nos parece que se possa ver nisto uma dosagem qualitativa.

ZEISSLER eleva gradualmente a quantidade de complemento e diminue o de extrato e soro o que é sobremodo complicado.

OLUF THOMSEN dosa complemento e hemolisina absorvido pelo extrato. Emprega depois quantidades decrescentes de soro

Mir scheint allerdings die Bezeichnung Vereinfachung für die Methode von NO-GUCHI unrichtig, denn sie fordert ein haemolytisches Serum für menschliche Erythrocyten, dessen Herstellung doch vielmehr Arbeit mit sich bringt als die eines Serums für Kaninchenerythrocyten. Die Bereitung eines Acetonextraktes ist doch schwieriger als eines alkoholischen. Es ist ein sehr empfindliches Verfahren, das mit grossem Nutzen neben dem WASSERMANN'schen benutzt werden kann.

Es ist doch immer die WASSERMANN'sche Reaktion, welche sich unter allen Methoden als die zuverlässigste erwiesen hat; natürlich ist sie nicht unfehlbar, bietet uns aber doch dieselbe Sicherheit wie die biologischen Verfahren im allgemeinen.

In 23 Fällen von Primärsyphilis erhielt ich 13 (= 57 0/0) positive Resultate, in 158 sekundärer 127 (= 80 0/0) und in 201 tertiärer Syphilis 120 (= 60 0/0).

Nummehr will ich zur Besprechung der Versuche, aus einer qualitativen eine quantitative Reaktion zu gestalten übergehen. Es würde uns doch wohl grosse Vorteile bieten, wenn man aus der qualitativen Bestimmung therapeutische und prognostische Schlüsse für die Praxis ziehen könnte.

Eine der ältesten Methoden hierfür ist diejenige von NEISSER, BRUCK und SCHUCHT, welche zuerst das Maximum von Antigen zu bestimmen suchten, welches durch eine bestimmte Komplementmenge im Syphilitikerserum gebunden wurde. Als Standard diente das im Vakuum getrocknete Serum. Hierauf wird des Standards Bindungskraft für Komplement untersucht, mit der des zu untersuchenden Serums verglichen, und zwar mit immer geringeren Mengen von Extrakt von 0,2 bis 0,005.

SORMANI und JOHN RODDY bestimmen die noetige Minimalmengen von Komplement, welche in Anwesenheit von Extrakt und Serum Haemolyse herbeifuehrt, Trotz der gewissenhaften Technik glaube ich doch nicht, dass man eine solche Dosierung eine qualitative nennen kann.

a examinar: 0,2 0,1 0,05 0,025 0,012. O grão da reação se exprime em por cento de hemolyse comparando o resultado da reação com uma escola organizada com diversas diluições de sangue de carneiro em agua distillada.

E' dos metodos que bons resultados nos ofereceram. Não temos ainda observação sufficiente para recommendal-o na pratica. Para terminarmos duas palavras sobre a ação do alcool que segundo CRAIG altera notavelmente o resultado da reação. Em poucos casos de individuos alcoolizados que nos procuraram para uma reação e em alguns doentes da clinica hospitalar a quem facilitamos durante um dia quantidade razoavel de vinho do Porto não observamos influencia manifesta. São tão poucas as observações neste capitulo que não podemos ter opinião a respeito.

Outra questão contraversa que nos prendeu a atenção é a da ação do iodeto de potassio sobre a reação.

Negada por Mc. DONAGH, JAWORSKI, MÜHSAM, KAREWSKI e LESSER e admitida por HÖHNE, BERNHARD, BLUMENTHAL, FISCHER e em raros casos por ENZO BIZZOZERO.

Em cinco casos observados na clinica civil e hospitalar o que constitue numero muito pequeno, submetidos exclusivamente ao tratamento iodado obtivemos ainda resultados positivos.

ZEISSLER steigert graduell den Komplementgehalt, dagegen vermindert er den des Extraktes und des Serums, was höchst kompliziert ist.

OLUF THOMSEN bestimmt die durch das Extrakt absorbierte Menge an Komplement und Haemolysin und benutzt dann immer kleinere Mengen des zu untersuchenden Serums: 0,2—0,1—0,05—0,025—0,012.

Der Grad der Reaktion wird durch den Prozentgehalt an Haemolyse ausgedrückt, welchen man an einer besonderen, aus Hammelblut und distilliertem Wasser, in verschiedenen Verdünnungen, aufgestellten Skala abliest.

Mit dieser Methode habe ich zwar gute Resultate erzielt, kann aber deren Anwendung aus Mangel an eigener Beobachtung nicht empfehlen.

Zum Schlusse will ich noch kurz die Wirkung des Alkohols besprechen, welcher nach CRAIG einen wesentlichen Einfluss auf das Resultat der Reaktion ausüben soll.

Bei den wenigen alkoholisierten Patienten, deren Reaktion ich machte, sowie bei anderen Kranken im Spital, welche während eines Tages ein beträchtliches Quantum Portwein zu trinken bekommen hatten, beobachtete ich keinen wesentlichen Einfluss; hierüber jedoch sind meine Beobachtungen so spärlich, dass ich kein Urteil darueber geben moechte.

Eine andere viel umstrittene Frage ist die Wirkung des Jodkaliums auf die Reaktion: Mc. DONAGH, JAWORSKI, MUEHSAM, KAREWSKI und LESSER bestreiten dieselbe, doch von HOEHNE, BERNHARD, BLUMENTHAL, FISCHER und ENZO BIZZOZERO (in seltenen Faellen) wird sie angenommen.

Bei 5 Patienten meiner Praxis und des Spitals war das Resultat positiv, obwohl ausschliesslich Jodbehandlung stattgefunden hatte.

BIBLIOGRAFIA.

- BERNARD, RÉNÉ & JOL- 1910 Résultats comparés de la méthode de WASSERMANN
TRAIN, E. et d'une méthode de simplification pratique pour le
diagnostic de la syphilis.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. de Paris T. LXIX,
N.º 28 pg. 241-243.
- BLACK & FRIEDEMANN 1910 Ueber thermoreversible Zustandsaenderungen der bei
der Wassermannschen Reaktion verwendeten alkoholi-
schen Leberextrakte.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. IV Teil I Orig. pag. 108
123.
- BRIEGER, L. & RENZ, H. 1910 Chlorsaeures Kali bei der Serodiagnose der Syphilis.
Deut. med. Wochenschr. N.º 2 p. 78.
- BIZZOZERO, ENZO 1910 Ueber den Einfluss der Iodkalibehandlung auf die Was-
sermannsche Reaktion.
Mediz. Klinik. N.º 31 pg. 1222-1223.
- BROWNING, CARL H. 1909 The biological syphilis reaction, its significance and me-
& MCKENZIE, IVY thod of application.
The Lancet, May pg. 1521-1523.
- BROWNING, CARL H. 1909 Modifications of serum and organ extract due to phy-
& MCKENZIE, IVY sical agencies and their effect on the Wassermann
reaction.
The Journ. of Path. and Bacter. VOL. 13 p. 325.
- CRAIG, CHARLES F. 1910 Observations upon the Noguchi modification of the Was-
sermann complement fixation test in the diagnosis of
Lues in the military service.
The Journ. of exp. Med. Vol. 12 N.º 6 Nov. 1, pg.
726-745.
- DANIELS, POLAK L. 1911 Ueber die Bedeutung der Verwendung von Antigenen
verschiedener Herkunft bei der Wassermannschen Re-
aktion.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. 2 S. 206-215.
- EISENBERG, PHILIPP 1910 Zur Technik und Theorie der Wassermann'schen Reaktion.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. IV pg. 331-348.
- EMERY, W. D'ESTE 1910 The technique of a simplified form of the Wassermann
reaction.
The Lancet, Sept. 3 pg. 732-734.
- FLEMMING, ALEXAN- 1909 The serumdiagnosis of syphilis.
DER Brit. med. Journ., Oct. 2, pg. 984-985.
- FLEMMING, ALEXAN- 1909 A simple methode of serumdiagnosis of syphilis.
DER The Lancet, pg. 1512-1515.

- GUGGENHEIMER, HANS 1911 Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Wassermannsche Syphilisreaktion.
Muench. med. Wochenschr. N.º 26 pg. 1392-1394.
- GURD, FRASER B. 1911 The use of active human serum in serumdiagnosis of syphilis.
The Journ. of infect. diseases, June 15th, pg. 427-443.
- HAYNN, FR. & SCHMITT, A. 1910 Ueber die angebliche Brauchbarkeit des Chlorsaurenkali fuer die Serodiagnose bei Syphilis.
Dermat. Zeits. Bd. XVII, H. 5 Pg. 325-334.
- HOEHNE, FR. & KALB, RICHARD 1910 Vergleichende Untersuchungen der Originalmethode nach Wassermann mit den uebrigen gebrauchlichen Modifikationen.
Arch. f. Dermat. u. Syphilis, Bd. CIV pg. 387-412.
- JACOBÆUS, H. C. 1911 Die stoerende Wirkung der im Menschenserum enthaltenen natuerlichen Ambozeptoren bei Wassermann's Reaktion.
Zeits. f. Immunitaetsforsch. Teil I, Orig. Bd. VIII, H. 5/6 pg. 615-625.
- JACOBÆUS, H. C. & BACKMANN, E. LOUIS 1910 Ueber verschiedene Modifikationen der Wassermannschen Reaktion.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. IV, H. 1/2 pg. 78-102.
- JACOBSTHAL, ERWIN 1911 Versuche zu einer optischen Serodiagnose der Syphilis.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. VIII, H. 1 pg. 107-128.
- JOLTRAIN, E. & BING, L. 1911 Méthodes de simplification du procédé de Wassermann pour le séro-diagnostic de la syphilis. Etude analytique et critique.
Arch. f. Dermatol. & Syphilis. Bd. CVI, pg. 337-344.
- LANGE, CARL 1910 Ergebnisse der Wassermannschen Reaktion bei Vorbehandlung der Sera mit Baryumsulfat nach Wechselmann.
Deut. med. Wochenschr., N.º 5 Pg. 217-219.
- LESSER, FRITZ 1910 Verschiedene Modifikationen der Wassermannschen Reaktion und ihre Bedeutung.
Dermatol. Zeits., Bd. XVII, H. 7 p. 504-512.
- MASLAKOWITZ, P. & LIEBERMANN, J. J. 1909 Zur Technik der Wassermannschen Reaktion.
Zeits. f. Immunitaetsforsch., Bd. II. H. 5 p. 554-566.
- MCDONAGH, J. E. B. 1910 The value of Wassermann reaction.
Brit. med. Journ., May, pg. 150-156.
- MINTZ, S. 1911 Zur Frage der Vervollkommnung der Wassermannschen Reaktion.
Zeits. f. Immunitaetsforsch. Bd. IX, H. 1 p. 29-41.

- NOGUCHI, HIDEYO 1909 A new and simple method for the serumdiagnosis of syphilis.
The Journ. of exp. Med. Vol. II pg. 392-401.
- NOGUCHI, HIDEYO 1910 Weitere Erfahrungen mit vereinfachte Methode der Serumdiagnose der Syphilis.
Zeits. f. Immunitaetsforsch. Bd. VII H. 3, pg. 353-372.
- NOGUCHI, HIDEYO 1911 Die quantitative Seite der Serodiagnostik der Syphilis mit Bemerkungen ueber den Globulin-und natuerlichen antihammel-Ambozeptorgehalt syphilitischer Sera sowie ueber die angebliche Gefahr von Auftreten des Neisser Sachsschen Phaenomen beim Verwenden des antimenschlichen Ambozeptors.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. O., H. 6 pg. 715-748.
- NOGUCHI, HIDEYO & BRONFENBRENNER, J. 1911 Variations in the complement activity and fixability of guinea pig serum.
The Journ. of exp. Med., Vol. 13 pg. 69-77.
- NOGUCHI, HIDEYO & BRONFENBRENNER, J. 1911 The interference of inactive serum and egg white in the phenomenon of complement-fixation.
Journ. of exp. Med., Vol. 13 pg. 92-98.
- NOGUCHI, HIDEYO & BRONFENBRENNER, J. 1911 The biochemical studies on so-called syphilis antigen.
Journ. of exp. Med., Vol. 13 pg. 43-68.
- NOGUCHI, HIDEYO & BRONFENBRENNER, J. 1911 The comparative merits of various complements and amboceptors in the serum diagnosis of syphilis.
Journ. of exp. Med. Vol. 13 p. 78-91.
- NOGUCHI, HIDEYO & BRONFENBRENNER, J. 1911 Barium sulphate absorption and the serumdiagnosis of syphilis.
Journ. of exp. Med., Vol. 13 pg. 217-228.
- RODDY, JOHN 1911 A resumé of one hundred Wassermann tests.
N. Y. med. Journ., Sept. 23 pg. 634-636.
- ROSSI, OTTORINO 1911 Ueber die Methodik der Wassermannschen Syphilisreaktion. Ein Verfahren zwecks Absorption der im Menschenserum normalerweise enthaltenen Ambozeptoren gegen rote Hammelblutkoerperchen.
Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. X, H. 3 pg. 321-326.
- SACHS, H. 1911 Ueber den Einfluss des Cholesterins auf die Verwendbarkeit der Organextrakte zur Wassermannschen Syphilisreaktion.
Berl. klin. Wochenschr. N.º 46 pg. 2066-2067.
- SORMANI, B. P. 1909 Quantitative Bestimmung der Luetischen Serumveraenderungen mittels der Reaktion von Wassermann, Neisser und Bruck.
Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 98. pg. 73-90.

- STERN, MARGERETE 1912 Ueber die Brauchbarkeit der Baryumsulfatbehandlung von Leichenseren zwecks serodiagnostischen Untersuchung. Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. 13, H. 6, pg. 688-694.
- THOMSEN, OLUF 1910 Die quantitative Ausfuehrung der Wassermannschen Reaktion. Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. 7. H. 4 pg. 389-407.
- THOMSEN, OLUF & BOAS, HAROLD 1911 Ueber die Thermoresistenz der in der Wassermannschen Reaktion wirksamen Antikoerper in den verschiedenen Stadien der Syphilis und bei anderen Krankheiten. Zeits. f. Immunitaetsf. Bd. 10, H. 3 pg. 337-361.
- VALENTINO, FACCHINI 1909 Beitrage zur Technik der Wassermannschen Reaktion. Zeits. f. Immunitaetsf., Bd. 2, H. 3 pg. 257-304.
-